

# Efectos del consumo de alcohol etílico en la cavidad oral: Relación con el cáncer oral

Elena Figuero Ruiz <sup>(1)</sup>, Ma<sup>a</sup> Ángeles Carretero Peláez <sup>(1)</sup>, Rocío Cerero Lapiedra <sup>(2)</sup>, Germán Esparza Gómez <sup>(3)</sup>, Luis Alberto Moreno López <sup>(4)</sup>

(1) Licenciada en Odontología por la U.C.M.

(2) Profesora asociada del Dpto. de Medicina y Cirugía Bucofacial de la Facultad de Odontología de la U.C.M.

(3) Profesor titular de Medicina Bucal del Dpto. de Medicina y Cirugía Bucofacial de la Facultad de Odontología de la U.C.M.

(4) Doctor en Odontología. Colaborador del Dpto. de Medicina y Cirugía Bucofacial de la Facultad de Odontología de la U.C.M. Madrid.España

## Correspondencia:

Elena Figuero Ruiz

C/ Clara del Rey, 43, esc. Izqda., 1º, 1ª. 28002 Madrid.

Tfno: 91 2205099 / 646831548.

E-mail: [efigueroiz@hotmail.com](mailto:efigueroiz@hotmail.com)

Recibido: 23-11-2002 Aceptado: 23-3-2003

Figuero-Ruiz E, Carretero-Peláez MA, Cerero-Lapiedra R, Esparza-Gómez G, Moreno-López LA. Efectos del consumo de alcohol etílico en la cavidad oral: Relación con el cáncer oral. Med Oral 2004;9:14-23.  
© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - ISSN 1137 - 2834

## RESUMEN

El consumo de bebidas alcohólicas se encuentra asociado desde un punto de vista epidemiológico con un riesgo aumentado de desarrollar cáncer del tracto gastrointestinal superior. La realización de estudios que establezcan esa asociación resulta complicada, debido tanto a la confluencia de varios factores de riesgo en una misma persona, por ejemplo alcohol y tabaco, como a la falta de datos que puedan ser comprobables por el clínico. Por ello no se conoce con exactitud cual es el mecanismo patogénico responsable de este aumento de riesgo, ya que el etanol *per se* no ha demostrado ser carcinógeno. Se han propuesto distintas hipótesis que tratan de explicar como el etanol, ya sea por vía local o sistémica puede actuar como factor de riesgo en el desarrollo de un cáncer oral. Este trabajo supone una revisión de la situación actual de los potenciales mecanismos patogénicos, dividiéndolos en efectos locales y sistémicos. Dentro de los primeros se hace especial referencia a la alteración de la permeabilidad de la mucosa oral, a la acción del acetaldehído y al papel de los retinoides

**Palabras clave:** Etanol, alcohol etílico, acetaldehído, alcohol deshidrogenasa (ADH), acetaldehído deshidrogenasa (ALDH), citocromo P4502E1, retinoides, polimorfismos.

## INTRODUCCION

El alcohol etílico o etanol, cuya fórmula química es CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>OH, es el componente activo esencial de las bebidas alcohólicas (1,2,3). Puede obtenerse a través de dos procesos de elaboración: la fermentación, o descomposición de los azúcares contenidos en distintas frutas, y la destilación, consistente en la depuración de las bebidas fermentadas (4).

Tras la ingesta de una bebida alcohólica, el etanol que forma parte de la misma es absorbido a nivel del intestino delgado, y en menor proporción en el grueso y en el estómago, llegando por vía portal al hígado, donde es metabolizado de forma mayoritaria (5). Dicho metabolismo se divide en dos etapas: la primera, consistente en la transformación del etanol en acetaldehído, puede ser realizada por tres vías, la vía de la alcohol deshidrogenasa (ADH), la vía microsomal hepática (MEOS), y la vía catalasa. La segunda etapa se caracteriza por la oxidación del acetaldehído obtenido anteriormente a acetato a través de la enzima acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) (5).

El consumo de bebidas alcohólicas tiene repercusiones prácticamente en todo el organismo, manifestándose en el ámbito de todos los aparatos y sistemas: nervioso (4-6), cardiovascular (5-8), digestivo(5-8), sexual (5,6) o a nivel de la médula ósea (5,6). En la cavidad bucal se caracteriza por la aparición de una serie de signos y síntomas clínicos originados bien por el efecto directo del alcohol en el organismo o bien derivados del descuido del aseo personal. De este modo, en sujetos alcohólicos crónicos se encuentra un mayor índice de caries (6,9), cálculo (6,9), sialosis (10-15), bruxismo (6,9), leucoplasia (16-22) y eritroplasia (23-25), y en cuanto al liquen plano oral, el etanol podría estar implicado en su potencial proceso de transformación maligna (26-29).

## ALCOHOL Y CÁNCER ORAL

El consumo crónico de bebidas alcohólicas está asociado desde un punto de vista epidemiológico con un riesgo aumentado de cáncer del tracto gastrointestinal superior (30-43). Resulta difícil establecer una relación directa de causa-efecto entre ambas entidades debido a la frecuente asociación del alcohol

con otras prácticas de riesgo tales como el tabaco, así como a la falta de datos que puedan ser objetivables por el clínico, debiendo basarse en la información aportada por el paciente en cuanto a cantidades ingeridas.

Aunque existen múltiples explicaciones que tratan de explicar el efecto promotor del alcohol, el mecanismo patogénico no está claro (30). La base de la que se parte es que el etanol *per se* no ha demostrado ser carcinógeno (30,44). Por ello se han propuesto distintas hipótesis que tratan de explicar como el etanol bien por vía local o sistémica puede actuar como factor de riesgo en el desarrollo del cáncer oral.

#### EFFECTO LOCAL:

El proceso local es el más estudiado, puesto que la boca es la primera parte del organismo que entra en contacto con el alcohol. En este momento los componentes que forman parte de las bebidas se encuentran en su máxima concentración siendo posteriormente sometidos a distintos procesos de transformación por los sistemas enzimáticos del organismo.

##### -1. Aumento de la permeabilidad.

El alcohol en contacto con la mucosa oral es capaz de producir una alteración en su morfología caracterizada por una atrofia epitelial (14,34,38,45), lo que supone un incremento en la susceptibilidad de dicho tejido frente a otros carcinógenos químicos. De esta forma, se ha sugerido que el etanol es capaz de aumentar la penetración de carcinógenos a través de la mucosa oral (16,38,46), debido tanto a un aumento en la solubilidad de los mismos (16,38), como a un aumento en la permeabilidad de la mucosa (5,38,47,48). Dicho incremento se explica por el efecto disolvente del etanol, capaz de eliminar el contenido lípido de la barrera que presenta la cavidad oral formada por lípidos derivados de la membrana que rodea los gránulos del estrato espinoso del epitelio (37). Sin embargo, para otros autores como Trigkas (49) o Howie (47), el incremento en la permeabilidad se debería a un reordenamiento de los elementos constituyentes de la membrana celular, como observan en muestras de tejidos linguales de cadáveres humanos recientes, en los que el etanol es capaz de aumentar la penetración de moléculas de alto peso molecular sin que se produzca ningún tipo de variación en su componente lipídico.

##### -2 Acción del acetaldehído:

El incremento en la permeabilidad de la mucosa oral no es suficiente para explicar el mayor riesgo de desarrollo de cáncer oral en personas bebedoras. Esto ha determinado la búsqueda de otros mecanismos asociados al consumo de etanol.

Debido a que el etanol *per se* no ha demostrado ser carcinógeno (44), se ha postulado el papel de su primer metabolito, el acetaldehído, como potencial factor implicado en los efectos del consumo de bebidas alcohólicas. La Agencia Internacional para la Investigación y el Cáncer (IARC) ha establecido que existe suficiente evidencia para identificar al acetaldehído como carcinógeno en animales, siendo posiblemente carcinógeno para humanos (50,51). Distintos estudios se han centrado en identificar los efectos del acetaldehído encontrando que en cultivos celulares a corto plazo causa mutaciones y otros daños a nivel del ADN; *in vitro* forma compuestos con el ADN e *in vivo* inicia la transformación de células de riñón de rata e inhibe la

reparación del ADN; parece ser un carcinógeno del tracto nasal cuando es inhalado por roedores en laboratorio; interfiere en la síntesis y reparación del ADN, y consecuentemente en el desarrollo de tumores; induce intercambios en las cromátidas hermanas; produce mutaciones puntuales en genes; inhibe la O<sup>6</sup>metilguanitransferasa, enzima encargada de reparar los daños causados por agentes alquilantes; se une a proteínas celulares y ADN provocando daños morfológicos y celulares en las células; sus compuestos son neoantígenos que determinan la producción de anticuerpos, estimulando el sistema inmune e induciendo una respuesta inmune citotóxica y además es capaz de destruir el ácido fólico *in vitro* (30,34,52-54).

Por tanto, debido al importante papel que parece jugar el acetaldehído en el desarrollo del cáncer oral se considera que todas aquellas situaciones que determinen una acumulación del mismo, bien por un aumento en su producción o por una disminución en su eliminación, suponen un mayor riesgo.

#### Metabolismo del acetaldehído a nivel oral:

Al igual que ocurre en el hígado, el metabolismo del etanol en la cavidad oral se caracteriza por una primera oxidación que lo transforma en acetaldehído a través de la ADH presente tanto en la microflora oral como en las células de la mucosa oral, así como a través del citocromo P4502. El inducido por el etanol. Posteriormente el acetaldehído sufrirá una segunda oxidación vía ALDH, que lo transformará en acetato, impidiendo la actividad tóxica del primer metabolito (5).

Por tanto la acumulación de acetaldehído puede deberse a un aumento en la actividad de la ADH de la microflora oral, la ADH de las células de la mucosa oral y del citocromo P4502E1 o a una disminución de la actividad de la ALDH.

##### 2.1. Papel de la ADH de la microflora oral.

El papel de la microflora oral en la oxidación del etanol ha sido estudiado por Homann (30-33) que ha demostrado la producción de cantidades considerables de acetaldehído durante el consumo social de alcohol. Este autor ha demostrado que los sujetos con tendencia a la flora aeróbica (*Streptococcus salivarius*, *Streptococcus viridans* hemolítico var., *Corynebacterium* sp., *Stomatococcus* sp., hongos) presentan una mayor producción de acetaldehído salival. De tal modo que el etanol parece incrementar la producción bacteriana de acetaldehído de forma dosis dependiente, y a partir de cantidades superiores a 40 gramos de etanol al día (30,34).

En esta misma línea de investigación Homann (33) ha encontrado una asociación entre los bajos niveles de higiene oral presentes en los sujetos alcohólicos y un sobrecrecimiento bacteriano, lo que repercutiría en una mayor concentración de acetaldehído salival por esta vía. Esto explicaría el aumento del riesgo de cáncer oral en pacientes alcohólicos con mala salud oral (34, 55)

El acetaldehído disuelto en la saliva es distribuido por todo el tracto gastrointestinal superior (30) actuando sobre la mucosa que lo recubre, lo que le va a permitir ejercer efectos directos sobre la misma, bien mediante un incremento en su permeabilidad permitiendo el paso de otros carcinógenos o bien pene-trando en las células epiteliales y causando daños sobre el ADN. A este respecto cabe destacar el estudio realizado por Homann

en 1997 (31) donde analiza mediante biopsias el efecto del acetaldehído sobre la mucosa oral de un grupo de ratas durante un periodo de ocho meses. No encuentra ningún tipo de lesión displásica ni cancerosa microscópica ni macroscópica; observa mayores índices de proliferación epitelial en las ratas del grupo experimental. No obstante, este estado de hiperproliferación podría constituir el primer paso en la génesis del cáncer oral debido a que las células en continuo estado de replicación presentan la posibilidad de acumular mayores errores que podrían dar lugar a la aparición de mutaciones, e incluso debido a que las células en esa fase son más susceptibles a la acción de otros carcinógenos que podrían atravesar su membrana y generar daños irreversibles (30).

## 2.2. Papel de la ADH de la mucosa oral.

El etanol, gracias al pequeño tamaño de su molécula, es capaz de atravesar las membranas celulares por simple difusión (5) y esto permite que la actividad ADH de las células epiteliales orales lo transformen en acetaldehído que se acumulará intracelularmente, ejerciendo sus efectos sobre el ADN epitelial (37,38). Se ha descrito que la ADH que se encuentra en las células de la mucosa oral presenta una elevada constante de afinidad ( $K_m$ ) lo que implica que va a contribuir en pequeña medida al metabolismo del etanol (a mayor valor de la constante de afinidad, menor afinidad de la ADH por el etanol, y por tanto menor transformación en acetaldehído) (30). El complejo ADH humano se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 4, con cinco genes,  $ADH_1$ ,  $ADH_2$ ,  $ADH_3$ ,  $ADH_4$  y  $ADH_5$ . La  $ADH_3$  es polimorfa en caucásicos ( $Arg^{271}Gln$  y  $Ile^{349}Val$ ) por lo que se habla de  $ADH_3^1$  ( $Arg^{271}$  e  $Ile^{349}$ ) y  $ADH_3^2$  (56). Según estudios realizados por Bosron en 1986 (57), aquellos sujetos cuyas enzimas estén codificadas por el alelo  $ADH_3^1$  metabolizan el etanol a acetaldehído entre dos y tres veces más rápido que aquellos que codifican los enzimas a partir del alelo  $ADH_3^2$ . Esto implicaría una mayor acumulación de acetaldehído, planteándose la hipótesis de que los sujetos que son homocigotos para el alelo  $ADH_3^{1-1}$  presentan un mayor riesgo de cáncer inducido por el alcohol. Harty en 1997 (52) en Puerto Rico y Coutelle en 1997 (58) en Francia, encuentran que aquellos sujetos con el genotipo  $ADH_3^1$  presenta un mayor riesgo de cáncer oral que  $ADH_3^1$  o  $ADH_3^2$ . En otros estudios más recientes como los de Bouchardy 2000 (59), Olshan 2001 (60), Schwartz, 2001 (56) no encuentran un riesgo aumentado para el cáncer orofaríngeo en sujetos bebedores con el genotipo  $ADH_3^1$ . Esta falta de asociación se explica cuando al valorar la importancia de la  $ADH_3$  en el metabolismo del etanol se observa que ésta no es la principal vía metabólica (60). Del mismo modo, también es importante tener en cuenta que las diferencias en cuanto al riesgo genético para los alelos de  $ADH_3$  sólo adquieren importancia para exposiciones crónicas a elevadas cantidades de etanol (60).

## 2.3. Citocromo P450.

El citocromo P450E1 se encuentra localizado en el retículo endoplásmico liso, y participa en la oxidación del etanol cuando los niveles de este son superiores a 50-80 mg/dl (5). Se conocen dos polimorfismos genéticos para este citocromo: Rsa/Pst I, con dos alelos: c1 y c2; y el polimorfismo en DraI, con

los alelos D y C (59). Varios estudios sugieren que los alelos variantes c2 y C están asociados con un aumento de la actividad enzimática del citocromo P450E1 (48,61) lo que implicaría una mayor acumulación de acetaldehído en el interior de las células epiteliales de la cavidad oral incrementando el riesgo de desarrollo de cáncer oral.

Por otro lado, el citocromo P450E1 es capaz de incrementar el riesgo de desarrollo de cáncer oral de un modo indirecto, mediante la activación de procarcinógenos y el incremento en la producción de radicales tóxicos (34). Estos efectos han sido mayoritariamente estudiados en relación con el cáncer de colon. Sin embargo son necesarias futuras investigaciones que aproximen estos conocimientos al campo de la cavidad oral.

## 2.4. Actividad de la ALDH.

La segunda vía a través de la cual el acetaldehído puede acumularse a nivel de la cavidad oral, es como consecuencia de una disminución en su eliminación. Para que el acetaldehído sea transformado a acetato es necesaria la actuación de la enzima aldehído deshidrogenasa, principal responsable de su metabolismo (5,50). De este modo, cualquier alteración a nivel de esta enzima supondrá un incremento en la acumulación de acetaldehído.

Al igual que ocurría con la enzima alcohol deshidrogenasa, las alteraciones en la actividad enzimática de la ALDH se encuentran asociadas a las distintas isoformas de la misma. La ALDH es una proteína tetramérica ubicada en las mitocondrias, de la cual se conocen dos isoenzimas: ALDHI y ALDHII (34,50). La ALDHII es codificada por el locus ALDH 2 del cromosoma 12 y se ha observado que el 40% de los indios americanos y el 50% de los orientales tienen una isoenzima modificada de diferente actividad (cambio de lisina por glutamina en el resto 487). Los sujetos con el alelo ALDH II<sup>2</sup> codifican enzimas inactivas, por tener baja afinidad por el acetaldehído, lo que hace que sean incapaces de metabolizarlo, presentando elevados niveles de acetaldehído intracelular. Tanto Yokohama 1996 (54), como Väkeväinen, 2000 (62) encuentran un mayor riesgo de cáncer oral en sujetos con formas inactivas de ALDH II.

## -3. Alteración del metabolismo de retinoides.

A pesar de que el papel del acetaldehído parece quedar bastante claro en el desarrollo del cáncer oral, se ha propuesto una nueva vía de investigación con el papel de los retinoides en el desarrollo de lesiones precancerosas. El consumo crónico de etanol se encuentra asociado con niveles disminuidos de retinoides a nivel de la cavidad oral (34).

La vitamina A y sus derivados sintéticos constituyen los retinoides, moléculas pequeñas involucradas en distintas funciones biológicas tales como regular el crecimiento y diferenciación de una amplia variedad de células (34, 63,64); por lo que cualquier alteración en su metabolismo y activación va a repercutir en un incremento en la susceptibilidad de la mucosa oral a otros carcinógenos (63). En animales de experimentación se ha encontrado una asociación entre la deficiencia de vitamina A y una alta incidencia de cáncer, así como un incremento de la susceptibilidad a los carcinógenos químicos (63). Para que los retinoides puedan ejercer sus funciones se requiere una conversión enzimática del retinol (vitamina A) a un li-

gando activo (ácido retinoico) que será capaz de unirse a los receptores de ácido retinoico localizados en el núcleo celular, controlando la expresión de los genes que median sus efectos (65). El etanol es un inhibidor competitivo del metabolismo del retinol, debido a que la misma enzima (ADH) se encarga de catalizar dos reacciones, por lo que se va a producir una acumulación de retinol, a expensas de la disminución de ácido retinoico, siendo ésta la forma activa (34, 56). A su vez, el primer metabolito del etanol, el acetaldehído, también es capaz de inhibir la generación de ácido retinoico (64). Por otro lado, el etanol parece causar una deficiencia de ácido retinoico en el hígado debido a un incremento en el catabolismo del mismo mediado por la acción del citocromo P4502E1 inducido por el etanol (64).

Los bajos niveles de ácido retinoico suponen una falta de control en el crecimiento de los epitelios lo que podría iniciar el desarrollo de lesiones malignas. Actualmente los retinoides se están empleando en el tratamiento de lesiones cancerosas y precancerosas habiéndose demostrado remisiones totales y parciales de leucoplasia en un 40-60% de los pacientes en tratamiento con vitamina A sistémica, aunque su uso tópico parece tener un efecto limitado (63).

## EFEECTO SISTEMICO

Se han propuesto distintas teorías que tratan de explicar la asociación entre el consumo de bebidas alcohólicas y el desarrollo de cáncer oral, debido al efecto que el etanol ejerce sobre órganos alejados de la cavidad bucal. Los más importantes son los realizados a nivel del hígado, ya que constituye el principal centro de metabolismo de productos, que no sólo no van a poder ser utilizados como fuentes de energía, sino que van a constituir potenciales carcinógenos. Entre ellos, el mismo etanol, que debido a la falta de transformación permanecerá más tiempo en sangre, actuando como un posible cocarcinógeno.

### -1. A nivel hepático.

El aumento de los niveles de etanol en el hígado supone que todas sus funciones se van a centrar en la transformación metabólica del mismo, lo cual va a originar una alteración en el metabolismo del resto de sustancias. Esto determina que se va a impedir la detoxificación (37,46,66) de determinados compuestos y la activación (66) de otros con potencial actividad carcinógena.

En cuanto al aprovechamiento de los nutrientes también estará alterado, debido a que las vías metabólicas estarán ocupadas en la transformación del etanol y se impide su correcto metabolismo (67). Al añadir a esto la falta de preocupación de los sujetos por llevar una alimentación sana y equilibrada (6), y su elevada tendencia al vómito (5), nos encontramos con sujetos con claros déficits nutricionales, algunos de los cuales se asocian directamente a una mayor prevalencia de cáncer oral (67), y en otros casos, supone un estado de debilidad general del organismo, que presentará mayor riesgo de cualquier patología (37,66). La depresión del sistema inmune asociada al consumo crónico de etanol contribuye a agravar esta situación.

### -2. A nivel de glándulas salivales.

Por último destaca el efecto del etanol a nivel de las glándulas salivales, las cuales se ven alteradas desde un punto de vista

morfológico y funcional, vía degeneración de su innervación autónoma, vía una infiltración grasa de las mismas, con un aumento bilateral, simétrico e indoloro de las parótidas, y una disminución del flujo salival, lo que lleva a una mayor acumulación de carcinógenos sobre la superficie de la mucosa oral, incrementando el riesgo de cáncer oral (11,14,37,38,68-72).

Sin embargo, resulta difícil establecer una asociación directa entre las alteraciones sistémicas asociadas al consumo de bebidas alcohólicas y el desarrollo de un cáncer de forma local a nivel de la cavidad oral. Por tanto, y ya que la evidencia epidemiológica demuestra la existencia de asociación, sería interesante la realización de futuros estudios centrados en este papel sistémico.

## ALCOHOL Y TABACO

El alcohol y el tabaco son considerados como los dos principales factores de riesgo en el desarrollo del cáncer oral (38,71-76). El papel independiente de cada uno de ellos parece estar claro, sin embargo el resultado de su asociación, situación muy frecuente en la sociedad actual, es un tema debatido (38,79). Al analizar los datos aportados por los distintos autores se observan tres posibles modelos que tratan de explicarla: modelo aditivo (Graham, 1977, Lewelyn and Mitchell, 1944, Wynder and Bross, 1957), en el que se suman los efectos producidos por cada factor de forma independiente; exponencial, según el cual los efectos se multiplicarían (66) y sinérgico o intermedio (Rothman and Keller, 1972). La mayor parte de los autores consideran que el efecto producido como consecuencia de ambos factores es superior a la simple suma de sus efectos de forma independiente (modelo sinérgico), de tal forma, que se buscan potenciales mecanismos que permitan explicar esta asociación. Uno de ellos se refiere al aumento de la permeabilidad de la mucosa oral (78,79) gracias a la acción del etanol, lo que facilitaría el paso de los carcinógenos derivados del tabaco (nitrosomonocotina) hacia el interior celular, ejerciendo daño directo sobre el ADN. En otro nivel se encontraría la capacidad del etanol para alterar el metabolismo hepático de determinadas sustancias. Esto impide la detoxificación de ciertos compuestos derivados del consumo de tabaco (72,79) e induce la activación de determinados sistemas enzimáticos (citocromo P4502E1), que son capaces de activar procarcinógenos liberados del tabaco (59,72,79). Tanto el consumo de alcohol como el de tabaco incrementan la producción de acetaldehído (33,34) a nivel de la cavidad oral, lo que supone una acumulación del mismo en cantidades lo suficientemente elevadas para ejercer efectos a nivel de las células epiteliales de la mucosa oral.

## DISCUSION

El papel del etanol en el desarrollo del cáncer oral es un tema debatido en nuestros días. Los estudios epidemiológicos, aunque difíciles de valorar por la presencia de variables de confusión tales como el consumo simultáneo de bebidas alcohólicas y tabaco, presentan datos que confirman su asociación, sin embargo aun no se conocen los mecanismos exactos a través de los cuales el etanol ejerce su efecto en la cavidad oral.

El aumento en la permeabilidad de la mucosa oral por acción

local del etanol queda demostrado en los estudios analizados, sin embargo esta acción no es suficiente para explicar el desarrollo de cáncer oral.

El acetaldehído, primer metabolito del etanol, ha sido identificado como carcinógeno en animales, por lo que cualquier aumento en su concentración va a repercutir sobre la mucosa oral. A esta situación se puede llegar por dos vías: un aumento en su producción o una disminución en su eliminación. Así, la ADH de la microflora oral desempeñaría un papel relevante en aquellos sujetos con escasa higiene oral y tendencia a flora aeróbica. Pero la transformación de etanol a acetaldehído puede no sólo verse influenciada por factores ambientales (higiene oral), sino que se postula la existencia de cierta susceptibilidad genética para el desarrollo de cáncer oral asociado al consumo de etanol. Dicha susceptibilidad se basa en la existencia de polimorfismos genéticos para las enzimas encargadas de metabolizar tanto el etanol como el acetaldehído, de tal modo que aquellos sujetos con “alelos susceptibles” presentarán una alteración en su función, conduciendo por este camino a una acumulación en la producción de acetaldehído. Los estudios que se centran en este apartado resultan contradictorios en el caso de la ADH de las células epiteliales, o escasos cuando se refieren a los polimorfismos del citocromo P4502E1 o de la ALDH.

Ha surgido una nueva vía de investigación con el estudio del metabolismo de los retinoides, moléculas fundamentales en la regulación del crecimiento y la diferenciación de los epitelios, y cuya actividad normal podría verse interrumpida por el proceso de transformación del etanol al producirse una inhibición competitiva en las enzimas participantes.

Sin embargo, a pesar de que los mayores efectos del etanol son ejercidos a nivel sistémico, especialmente en el hígado, al ser el principal centro de transformación del mismo, son pocos los estudios que analizan la relación entre el efecto sistémico del etanol y su acción sobre el desarrollo del cáncer oral. Esto hace que sean necesarias futuras investigaciones que establezcan el nexo de unión entre ambos procesos.

Por último destacar que la mayor parte de los autores coinciden en afirmar que la asociación del consumo de alcohol y tabaco aumenta el riesgo de desarrollo del cáncer oral en una cuantía mayor que lo que supondría la suma de sus efectos.

---

## ENGLISH

---

# Effects of the consumption of alcohol in the oral cavity: Relationship with oral cancer

FIGUERO-RUIZ E, CARRETERO-PELÁEZ MA, CERERO-LAPIEDRA R, ESPARZA-GÓMEZ G, MORENO-LÓPEZ LA. EFFECTS OF THE CONSUMPTION OF ALCOHOL IN THE ORAL CAVITY: RELATIONSHIP WITH ORAL CANCER. *MED ORAL* 2004;9:14-23.

## SUMMARY

In an epidemiologic point of view the consumption of alcoholic beverages is found to be associated to an increased risk for developing an upper gastrointestinal tract cancer. The relation of the studies that establish this connection is complicated due to both the confluence of various risk factors within the same person such as alcohol and tobacco, and to the lack of data that can be verifiable by the clinician. For this reason the exact pathogenic mechanism responsible for this increase of risk is not known since ethanol per se was not confirmed to be carcinogenic. Different hypotheses have been proposed, explaining how ethanol, by oral or systemic route, can act as a risk factor for the development of oral cancer. This article serves as a review of the actual situation of the potential pathogenic mechanisms, dividing them in local and systemic effects. Within the aforementioned special reference is made on the alteration of the oral mucosa permeability, the action of acetaldehyde and the role of retinoids.

**Key words:** *Ethanol, ethyl alcohol, acetaldehyde, alcohol dehydrogenase (ADH), aldehyde dehydrogenase (ALDH), cytochrome P4502E1, retinoids, polymorphisms.*

## INTRODUCTION

Ethyl alcohol or ethanol, whose chemical formula is  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ , is the essential active component of alcoholic beverages (1,2,3). It may be obtained through two elaboration procedures: by fermentation or decomposition of sugars contained in various fruits, and by distillation, consisting of purifying the fermented drink (4).

After the ingestion of an alcoholic drink, the ethanol contained within is absorbed in the small intestines, and in a lesser amount in the large intestines and the stomach, reaching the liver by portal entry, where majority of it is metabolized (5). This metabolism is divided into two stages: the first stage consists of the transformation of ethanol to acetaldehyde, which can be achieved in three ways, by alcohol dehydrogenase (ADH), by hepatic microsomal system (MEOS), and by catalase enzyme. The second stage is characterized by the oxidation of the earlier obtained acetaldehyde into acetate by means of the aldehyde dehydrogenase enzyme (ALDH)(5).

The consumption of alcoholic beverages has repercussions in

practically the whole body. Manifesting itself entirely all throughout the bodily organs and systems: nervous (4-6), cardiovascular (5-8), digestive (5-8), sexual (5,6) or at the level of the medulla osea (5,6). In the oral cavity it is characterized by the appearance of a series of clinical signs and symptoms triggered by either the direct effect of alcohol in the organism or by the consequence of poor personal hygiene. In this manner, significant indices of caries (6,9), calculus (6,9), sialosis (10-15), bruxism (6,9), leukoplakia (16-22) and erythroplasia (23-25) are found in chronic alcoholics. With regards to lichen planus, ethanol could be implicated in its potential transformation process to malignancy (26-29).

## ALCOHOL AND ORAL CANCER

From an epidemiologic viewpoint, chronic consumption of alcoholic beverages is associated with an increased risk for the upper gastrointestinal tract cancer (30-43). Establishing a direct cause-effect relation between both entities turns out to be difficult. This is due to the frequent association of alcohol with other risk bearing practices such as cigarette smoking, as well as the lack of objective data that can serve the clinician, which have been based on the information given by the patient when it comes to the quantity ingested.

Although multiple explanations exist in trying to explain the promoting effect of alcohol, the pathogenic mechanism is not clear (30). The reason for which is because ethanol as such has not been verified to be carcinogenic (30,44). Thus various hypotheses have been proposed in the explanation for ethanol acting as a risk factor, locally or systemically, in the development of oral cancer.

### LOCAL EFFECT:

The local process is the most studied, since the mouth is the external part of the body that is in contact with alcohol. In this moment the components that form part of the beverages are encountered in their maximum concentration which later on undergo various transformation processes mediated by the enzymatic systems of the body.

#### -1. Increase in permeability

The alcohol in contact with the oral mucosa is capable of producing an alteration in morphology characterized by an epithelial atrophy (14,34,38,45), which means an increase in the susceptibility of the said tissue against other carcinogenic chemicals. In this manner, it was suggested that ethanol is capable of increasing the penetration of carcinogens through the oral mucosa (16,38,46), due to both their increase in solubility (16,38), and an increase in the permeability of the oral mucosa (5,38,47,48). The said increase is explained by the dissolvent effect of ethanol, capable of eliminating the lipid component of the barrier present in the oral cavity formed by the derived lipids of the membrane that surround the granules of the epithelial spinous layer (37). However, for other authors as Trigkas (49) or Howie (47), the increase in permeability would be due to the reorganization of the elements constituting the cell membrane, as observed in samples of lingual tissues of recent human cadavers, wherein ethanol is capable of increasing the penetration of molecules of high molecular weight without

producing any type of variation in its lipid component.

#### -2. Action of Acetaldehyde:

The increase in the oral mucosa permeability is not enough to explain the major risk for developing oral cancer in alcoholic drinkers. This has determined the search for other mechanisms associated to the consumption of ethanol.

Since ethanol by itself has not been proven to be carcinogenic (44), the role of its first metabolite, acetaldehyde, has been postulated as a potential factor implicated in the effects of the consumption of alcoholic drinks. The International Agency for Research on Cancer (IARC) has established that sufficient evidence exists to identify acetaldehyde as carcinogenic in animals, being possibly carcinogenic to humans (50,51). Various studies have been focused in identifying the effects of acetaldehyde. In short term cellular cultures it causes mutations and other damages to the DNA; in vitro they form compounds with the DNA and in vivo they initiate the transformation of rat kidney cells and inhibit the repair of DNA. It appears to be a nasal tract carcinogen when inhaled by rodents in a laboratory; It interferes with the synthesis and reparation of DNA, and consequently the development of tumors; It induces interchanges in sister chromatids; produces specific gene mutations; inhibits the O6methylguanitransferase, enzyme responsible for repairing the injury caused by alkylating agents; It unites to cellular proteins and DNA provoking morphologic and cellular injury; Its components are neoantigens that determine the production of antibodies, stimulating the immune system and inducing a cytotoxic immune response and it is also capable of in vitro follic acid destruction (30,34,52-54).

Thus, due to the important role that acetaldehyde seems to play in the development of oral cancer, it is considered that all those situations in which its accumulation is determined, either due to an increase in its production or to a decrease in its elimination, supposes a major risk.

#### Oral Metabolism of Acetaldehyde:

As what happens in the liver, the metabolism of ethanol in the oral cavity is characterized by a primary oxidation, which transforms it into acetaldehyde by means of the ADH present in both the oral microflora and the cells of the oral mucosa. In the same way as by means of the cytochrome P4502E1 brought about by ethanol. Later the acetaldehyde will suffer a second oxidation through ALDH, which transforms it into acetate, hampering the toxic activity of the first metabolite (5).

Therefore the accumulation of acetaldehyde can be due to an increase in the activity of ADH in the oral microflora, the ADH of the cells of the oral mucosa and the cytochrome P4502E1 or a decrease in the activity of the ALDH.

#### 2.1 Role of ADH in the oral microflora

The role of the oral microflora in the oxidation of ethanol has been studied by Homann (30-33) who demonstrated the production of considerable quantities of acetaldehyde during the social consumption of alcohol. This author has demonstrated that subjects with tendency to the aerobic flora (*Streptococcus salivarius*, *Streptococcus viridans* hemolytic var., *Corynebacterium* sp., *Stomatococcus* sp., fungi) present a major production of salivary acetaldehyde. In such a way that the

ethanol seems to increase the bacterial production of acetaldehyde in a dose-dependent manner, and from quantities superior to 40 grams of ethanol a day (30,34).

In this same line of investigation Homann (33) has found an relation between the low levels of oral hygiene present in alcoholic subjects and a bacterial overgrowth, which reflects in a significant concentration of salivary acetaldehyde in this route. This explains the increase of risk for oral cancer in alcoholic patients with poor oral health (34, 55).

The acetaldehyde dissolved in the saliva is distributed throughout the upper gastrointestinal tract (30) acting on the covering mucosa. Upon which direct exertion of its effects is facilitated, either by means of an increase in its permeability, permitting the passage of other carcinogens or by penetrating in the epithelial cells and causing injury on the DNA. To this respect, it is possible to point out the study by Homann in 1997 (31) where the effect of acetaldehyde on the oral mucosa of a group of rats in an eight-month period was analyzed by means of biopsies. No type of dysplastic, neither microscopic nor macroscopic cancerous lesion was found; major indices of epithelial proliferation were observed in the experimental group of rats. Nevertheless, this state of hyperproliferation might constitute the first step in the genesis of oral cancer due to the cells in continuous state of replication presenting the possibility of accumulating major errors that might give rise to the appearance of mutations, and even due to the fact that the cells in this phase are more susceptible to the action of other carcinogens that might cross its membrane and generate irreversible injury (30).

## 2.2 Role of ADH of the oral mucosa.

Thanks to its small molecular size, ethanol is capable of passing through cellular membranes through simple diffusion (5) and allows the ADH activity of the oral epithelial cells to transform it into acetaldehyde, which will be accumulated intracellularly, exerting its effects on the epithelial DNA (37,38). ADH has been described to be found in the cells of the oral mucosa presenting a high affinity constant (Km). Which implies that in a small amount it will contribute to the metabolism of ethanol (the greater the value of the affinity constant, the lesser is the affinity of ADH for ethanol and therefore lesser transformation to acetaldehyde). (30). The human ADH complex is found localized in the long arm of chromosome 4, with five genes, ADH<sub>1</sub>, ADH<sub>2</sub>, ADH<sub>3</sub>, ADH<sub>4</sub>, ADH<sub>5</sub>. ADH<sub>3</sub> is polymorphous in caucasians (Arg<sup>271</sup>Gln and Ile<sup>349</sup>Val) for which ADH<sub>3</sub><sup>1</sup> (Arg<sup>271</sup> and ile<sup>349</sup>) and ADH<sub>3</sub><sup>2</sup> are spoken of (56). According to the studies done by Bosron in 1986 (57), those enzymes that are coded by the allele ADH<sub>3</sub><sup>1</sup> metabolize ethanol to acetaldehyde two to three times faster than those that codify their enzymes from the allele ADH<sub>3</sub><sup>2</sup>. This will imply a major accumulation of acetaldehyde, giving rise to the hypothesis that the homozygotic subjects for the allele ADH<sub>3</sub><sup>1-1</sup> present a major risk for cancer induced by alcohol. In 1997, Harty (52) in Puerto Rico and Coutelle (58) in France, found that those subjects with the genotype ADH<sub>3</sub><sup>1</sup>, present a greater risk for oral cancer than ADH<sub>3</sub><sup>2</sup>. In other more recent studies as those of Bouchardy 2000 (59), Olshan 2001 (60), Schwartz, 2001 (56) no increased risk is found for

oropharyngeal cancer in drinkers with ADH<sub>3</sub><sup>1</sup> genotype. This lack of correlation is explained when valuing the importance of the ADH<sub>3</sub> in the metabolism of ethanol, it is observed that this is not the main metabolic means (60). In the same way, it is also important to take into account that the differences in the genetic risks for alleles of ADH<sub>3</sub> are only rendered important for chronic exposures to elevated quantities of ethanol (60).

## 2.3. Cytochrome P450.

Cytochrome P450E1 is found in the smooth endoplasmic reticulum and participates in the oxidation of ethanol when ethanol levels are superior to 50-80 mg/dl (5). Two genetic polymorphisms are known for this cytochrome: Rsa/Pst I, with two alleles: c1 and c2; and the DraI polymorphisms, with alleles D y C (59). Various studies suggest that the variant allele c2 and c are associated with an increase in enzymatic activity of cytochrome P450E1 (48, 61), that implies a significant accumulation of acetaldehyde within the epithelial cells of the oral cavity, increasing the risk for the development of oral cancer. On the other hand, the cytochrome P450E1 is capable of increasing the development of oral cancer in an indirect manner, by means of activating procarcinogens and increasing the production of radical toxins (34). These effects have mostly been studied in relation to colon cancer. However, future researches that approach this knowledge to the oral cavity field are necessary.

## 2.4 ALDH Activity

The second means through which acetaldehyde can accumulate at oral cavity level, is like consequence to a decrease in its elimination. For acetaldehyde to be transformed to acetate the action of aldehyde dehydrogenase enzyme, most responsible for its metabolism, is necessary (5, 50). In this manner, any alteration at the level of this enzyme would suppose an increase in the accumulation of acetaldehyde.

Just as what would occur with the alcohol dehydrogenase enzyme, the alterations in the enzymatic activity of the ALDH is found associated to its different isoforms. ALDH is a tetrameric protein located within the mitochondrias, of which two isoenzymes are known: ALDHI and ALDHII (34,50). The ALDHII is coded by the locus ALDH 2 of chromosome 12. It has been observed that 40% of american indians and 50% of orientals have a modified isoenzyme of different activity (change of lysine to glutamine in the remaining 487). Subjects with the allele ALDH II2 codify inactive enzymes, by having low affinity to acetaldehyde, which makes them incapable to metabolize it, presenting high levels of intracellular acetaldehyde. Both Yokohama 1996 (54), and Väkeväinen, 2000 (62) find a major risk for oral cancer in subjects with inactive forms of ALDH II. -3. Alteration in retinoid metabolism.

Although the role of acetaldehyde in the development of oral cancer seems to be quite clear, a new route of investigation has been proposed with the role of retinoids in the development of precancerous lesions. Chronic consumption of ethanol is found associated with decreased levels of retinoids in the oral cavity (34). Vitamin A and its synthetic derivatives constitute the retinoids, small molecules involved in different biological functions such as growth regulation and wide variety of cellular differentiation

(34, 63,64); for which any alteration in metabolism and activation will reflect in an increase in the oral mucosa susceptibility to other carcinogens (63). In experimental animals a relation between vitamin A deficiency and a high incidence of cancer has been found, so as an increase in the susceptibility of chemical carcinogens (63).

In order for the retinoids to exert their functions an enzymatic conversion of retinol (vitamin A) to an active binding protein (retinoic acid) that will be capable of uniting itself to the receptors of retinoic acid localized in the nucleus of the cell, controlling the gene expressions that mediates its effects (65). Ethanol is a competitive inhibitor of retinol metabolism, since the same enzyme (ADH) is in charge of catalyzing two reactions in which an accumulation of retinol will be produced, in the expense of the reduction of retinoic acid, making this the active form (34, 56). At the same time, the first metabolite of ethanol, acetaldehyde, is also capable of inhibiting the generation of retinoic acid (64). On the other hand, ethanol apparently causes a deficiency of retinoic acid in the liver due to an increase in its catabolism mediated by the action of cytochrome P450E1 induced by ethanol (64).

The low levels of retinoic acid suppose a lack of control in epithelial growth, which could initiate the development of malignant lesions. Presently retinoids are being employed in the treatment of cancerous and precancerous lesions with partial and total remissions of leucoplakia demonstrated in 40-60% of the patients in systemic vitamin A treatment, though their topical use seem to have a limited effect (63).

## SYSTEMIC EFFECT

Different theories have been proposed trying to explain the relation between the consumption of alcoholic drinks and the development of oral cancer, due to the effect that ethanol exerts on organs distant to the oral cavity. The most important are those made on the liver, since it deals with the principal center of product metabolism. Not only will it not be capable of being used as a source of energy, but also will constitute potential carcinogens. Among them, ethanol itself, which due to the lack of transformation will stay longer in the blood, acting as a possible carcinogen.

### -1. At hepatic level

The increase of ethanol levels in the liver supposes that all liver functions will be centered in its metabolic transformation, which in turn will originate an alteration in the metabolism of the rest of the substances. This determines that the detoxification of certain compounds (37, 46, 66) and the activation (66) of others, with potential carcinogenic activity, will be impeded.

The taking up of the nutrients is also altered, due to the metabolic processes being occupied in the transformation of ethanol and its correct metabolism being hampered (67). As we add this to the subject's carefree attitude in having a healthy and equilibrated diet (6), and the high tendency to vomiting (5), we find ourselves with subjects with high nutritional deficiencies. Some of which are directly associated with a major prevalence to oral cancer (67), and in other cases, entail a state of generalized bodily weakness, which will present a major risk for any

pathology (37, 66). The depression of the immune system associated to the chronic consumption of ethanol contributes the aggravation of this situation.

### -2. At salivary gland level

Lastly, the effect of ethanol at salivary gland level is pointed out. These are seen altered from a morphologic and functional point of view, through the degeneration of its autonomic innervation, by way of its own fatty infiltration, with a painless, symmetric and bilateral size increase of the parotid glands, and a decrease in salivary flow. Leading to the accumulation of carcinogens on the surface of the oral mucosa and increasing the risk for oral cancer (11, 14, 37, 38, 68-72).

However, it is difficult to establish a direct relationship between the systemic alterations associated to the consumption of alcoholic drinks and the development of cancer in a local form at the level of the oral cavity. Thus, and since the epidemiological evidence demonstrate the existence of association, it would be interesting to accomplish future studies focused on this systemic role.

## ALCOHOL AND TOBACCO

Alcohol and tobacco are considered as two principal risk factors in the development of oral cancer (38,71-76). The independent role of each one of them seems to be clear. However, the associated effect of their combination, a frequent situation in the present society, is a debated topic (38,79). Upon analyzing the given data by the different authors three possible models are observed in their explanations: Additive model (Graham, 1977, Lewelyn and Mitchell, 1944, Wynder and Bross, 1957), in which the effects produced by each factor are summed independently; Exponential, according to which the effects would be multiplied (66) and Synergic or Intermediate (Rotham and Keller 1972). The majority of the authors consider that the effect produced as a consequence of both factors is superior to the simple sum of their independent effects (synergic model), in such a way that potential mechanisms that permit to explain this combination are searched.

One of them refers to the increase in the permeability of the oral mucosa (78,79) thanks to the action of ethanol, which facilitates the passage of the carcinogenic derivatives of tobacco (nitrosonornicotina) towards the interior of the cell, directly injuring the DNA. In a different level the capacity of ethanol to alter the hepatic metabolism of certain substances would be encountered. This impedes the detoxification of certain compounds derived from cigarette smoking (72,79) and induces the activation of specific enzymatic systems (cytochrome P450E1), that are capable of activating procarcinogens liberated from the tobacco (59,72,79). Both the consumption of alcohol and tobacco increase the production of acetaldehyde (33,34) in the oral cavity, which supposes their accumulation in high enough quantities to provide their effects at the level of the epithelial cells in the oral mucosa.

## DISCUSSION

The role of ethanol in the development of oral cancer is a topic debated on these days. The epidemiologic studies, though



difficult to value, due the presence of confusing variables such as the simultaneous consumption of alcoholic drinks and tobacco, present data that confirm its connection. However, the exact mechanisms through which ethanol exerts its effect in the oral cavity is not yet known.

The increase in the oral mucosa permeability by local action of ethanol is demonstrated in the analyzed studies. However this action is not sufficient to explain the development of oral cancer. Acetaldehyde, the first metabolite of ethanol, has been identified as carcinogenic in animals, for which any increase in its concentration will reflect on the oral mucosa. There are two ways in which we could arrive at this situation: an increase in its production and a decrease in its elimination. This way, the ADH in the oral microflora would carry out an important role in those subjects with poor oral hygiene and the tendency to aerobic flora. But the transformation of ethanol to acetaldehyde can not only be seen influenced by environmental factors (oral hygiene), but can postulate the existence of certain genetic susceptibility to the development of oral cancer related to the consumption of ethanol. The said susceptibility is based on the existence of genetic polymorphisms for the enzymes in-charge of metabolizing both ethanol and acetaldehyde. In such a way that those subjects with "susceptible alleles" will present a functional alteration, this way leading to an accumulation of acetaldehyde concentration. The studies that are focused on this topic turn out to be contradictory, in the case of the ADH of epithelial cells, or scanty when referring to the polymorphisms of cytochrome P4502E1 or of ALDH.

A new route of research has come to light on the study of the retinoid metabolism. Fundamental molecules in the regulation of growth and the differentiation of the epitheliums, and whose normal activity could be seen interrupted by the ethanol transformation process upon producing a competitive inhibition in the participating enzymes.

However, in spite of the major effects of ethanol being exerted at systemic level, especially in the liver, by being its principal center of transformation, few are the studies that analyze the relation between the systemic effect of ethanol and its action on the development of oral cancer. This is what makes future researches establishing the bond of union between both processes necessary.

Lastly, to emphasize that the majority of the authors coincide in affirming that the combination of the consumption of alcohol and tobacco increases the risk of developing oral cancer in a quantity greater than what the sum of their effects would suppose.

## BIBLIOGRAFIA/REFERENCES

- Carles J, eds. La química del vino. Barcelona: Oikos-Tau Editores;1972. p. 32-9.
- Mencías Rodríguez E, Mayero Franco LM, eds. Manual de toxicología básica. Madrid:Díaz Santos Editores; 2000. p. 335-51.
- Secades Villa R, eds. Alcoholismo juvenil: prevención y tratamiento. Madrid: Pirámide Editores SA; 1996. p. 17-56.
- II Congreso Internacional de alcohólicos rehabilitados. Cero grados, 2001; 7.
- Schüller, A,eds. Alcohol y enfermedad. Madrid: Eudema Editores SA; 1991. p. 17-33 y p. 336-7.
- López Jiménez J, Giménez Prats MJ, Boj Quesada JR., Caballero Herrera R. Alcoholismo: consideraciones estomatológicas. Archivos de Odontoes-tomatología 1999;15:391-7.
- Shukla S, Sun G, Gibson W, Savolainen MJ, Alling C and Hoek JB. Ethanol and lipid metabolic signalling. Alcoholism: Clinical and Experimental Research May Supplement 2001;25:33-9.
- Rayo Llerena I, Marín Huerta E. Vino y corazón. Revista española de cardiología 1998;51:435-49.
- Teixedor R., Guardia J, eds. Medicina Interna. Tomo I. Barcelona: Masson Editores; 1998. p. 1556-9.
- Abelson D, Mandel I, Karmiol M. Salivary studies in alcoholics cirrhosis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1971;41:188-92.
- Mandel L. Salivary glands-Alcoholic sialoadenosis. Oral and Maxillofacial Surgery, Columbia University, School of Dental & Oral Surgery, Disponible en [http://cpmcnet.columbia.edu/dept/dental/OMS/OMS\\_salivary010.html](http://cpmcnet.columbia.edu/dept/dental/OMS/OMS_salivary010.html).
- Mandel L, Baurmash H. Parotid enlargement due to alcoholism. JADA 1971;82:369-73.
- Giovannini U. Sialoadenosi. Plastic Surgery Institute of the University of Milan, disponible en [http://users.unimi.it/chpalst/ups/\\_10t09e.html](http://users.unimi.it/chpalst/ups/_10t09e.html).
- Maier H, Mayer B, Adler D, Mall G, Born IA. Lipomatous atrophy of the parotid gland in chronic alcohol consumption. Laryngorhinootologie 1990; 69:600-4.
- Scott J, Burns J,Flowr EA. Histological analysys of parotid and submandibular glands in chronic alcohol abuser: a necropsy study. J Clinic Pathol 1988;41:837-40.
- García-Pola Vallejo MªJ, López Arranz JS. Criterios clínicos para calcular el riesgo de malignización de la lesión leucoplásica. Avances en Odontoes-tomatología 1991;7:89-102.
- Gupta, P. Epidemiologic study of the association between alcohol habits and oral leukoplakia. Community Dental Oral Epidemiol 1984;12:47-50.
- Evstifeeva TV, Zaride, DG. Nass use, cigarette smoking, alcohol consumption and risk of oral and oesophageal precancer. Eur J Cancer B Oral Oncology 1991;28B:29-35.
- Shiu MN, Chen THH, Chang SH, Hahn LJ. Risk factors for leukoplakia and malignant transformation to oral carcinoma: a leukoplakia cohort in Taiwan. British Journal of Cancer 2000;82:1871-4.
- Macigo, FG. and Guthua, SW. Influence of dose cessation of kiraiku, cigarettes and alcohol use on the risk of developing oral leukoplakia. European J of Oral Science 1996;104:498-502.
- Macigo FG, Mwaniki DL, Guthua SW. The association between oral leukoplakia and use of tobacco, alcohol and khat based on relative risks assessment in Kenya. Europ J Oral Science 1995;103:268-73.
- Hashibe M, Sankaranarayanan R, Thomas G, Kuruvilla B, Mathew B, Somanathan T, et al. Alcohol drinking, body mass index and the risk of oral leukoplakia in an Indian population. Int J Cancer 2000;88:129-34.
- Dean Ferrer A, Alanillos FJ, Sánchez J, Peñalba M, Dean Ferrer R, Salvatierra J. Eritropiasia de la cavidad oral. Una lesión precancerosa agresiva: presentación de seis casos clínicos. Medicina Oral 2000;5:324-30.
- Gándara JM, García A, Gándara P, Blanco A, Somoza JM, y Gallas M. Lesiones precancerosas de la cavidad oral. Medicina Oral 1999;4:588-606.
- Hashibe M, Kuruvilla B, Thomas G, Sankaranarayanan R, Maxwell D, Zhang Z. Chewing tobacco, alcohol and the risk of erythroplakia. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 2000;9:639-45.
- Eisenberg E, Krutchoff DJ. Lichenoid lesions of oral mucosa. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1992;73:699-704.
- Krutchoff D, Cuttler L, Laskowski S. Oral lichen planus: the evidence regarding potential malignant transformation. J Oral Pathol Med 1978;7:1-7.
- Camps M, Bagán JV, Ramón C, Gavalda C. Asociación entre liquen plano oral y carcinoma de células escamosas. Presentación de seis casos. Revista Europea de Odontoes-tomatología 1999;XI:217-26.
- Velasco Ortega E, Martínez Sahuquillo A, Vigo M, Valencia S, Bullón P. La valoración del liquen plano como proceso cancerizable. A propósito de un caso. Archivos de Odontoes-tomatología 1996;12:3-12.
- Homann N, Jousimies H, Jokelainen K, Heine R, Salaspuro M. High acetaldehyde levels in saliva after ethanol consumption; methodological aspects and pathogenic implications. Carcinogenesis 1997;18:1739-43.
- Homann N, Kärkkäinen P, Koivisto T, Jokelainen K, Salaspuro M. Effects of acetaldehyde on cell regeneration and differentiation of the upper gastrointestinal tract mucosa. J Natl. Cancer Instit 1997;89:1692-7.
- Homann N, Tillonen J, Meurman J, Rintamáki H, Lindqvist C, Rautio M,

- et al. Increased salivary acetaldehyde levels in heavy drinkers and smokers: a microbiological approach to oral cavity cancer. *Carcinogenesis* 2000; 21:663-8.
33. Homann N, Tillonen J, Rintamäki H, Salaspuro M, Lindqvist C, Meurman JH. Poor dental status increases acetaldehyde production from ethanol in saliva: a possible link to increased oral cancer risk among heavy drinkers. *Oral Oncology* 2001;37:153-8.
  34. Seitz H, Matsuzaki S, Yokohama A, Homann N, Väkeväiene S, Dong X. Alcohol and cancer. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2001; 25:137-143.
  35. Franceschi S, Bidoli E, Herrero R, Muñoz N. Comparison of cancers of the oral cavity and pharynx worldwide: etiological clues. *Oral Oncology* 2001; 36:106-15.
  36. La Vecchia C, Tavani A, Franceschi S, Levi F, Corrao G, Negri E. Epidemiology and prevention of oral cancer. *Oral Oncology* 1997;33:302-12.
  37. Ogden GR, Wight AJ. Aetiology of oral cancer: alcohol. *British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* 1998;36:247-51.
  38. Wight AJ, Ogden GR. Possible mechanism by which alcohol may influence the development of oral cancer-a review. *Oral Oncology* 1998;34:441-7.
  39. Marshall J, Graham S, Haughey B, Shedd D, O'Shea R, Brasure J, et al. Smoking, alcohol denitention and diet in the epidemiology of oral cancer. *Oral Oncology Eur J Cancer* 1995;28:9-15.
  40. Serra M, La Vecchia C, Luchini F, Ramón JM, Franceschi S, Ribas L, et al. Tendencia de la mortalidad por cáncer orofaríngeo en España. 1955-1989. *Archivos de Odonto-Estomatología* 1993;9:169-73.
  41. Macfarlane GJ, Zheng T, Marshal JR, Boffetta P, Niu S, Brasure J, et al. Alcohol, tobacco, diet and the risk of oral cancer: a pooled analysis of three case-control studies. *Oral Oncology Eur J Cancer* 1995;31:181-7.
  42. Zheng T, Holford T, Chen Y, Jiang P, Zhang B, Boyle P. Risk of tongue cancer associate with tobacco smoking and alcohol consumption: a case-control study. *Oral Oncology* 1997;33:82-5.
  43. Mackenzie J, Ah-See K, Thakker N, Sloan P, Maran A, Birch et al. Increasing incidence of oral cancer among young persons: what is the aetiology? *Oral oncology* 2000;36:387-9.
  44. IARC Monographs. The evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: alcohol and alcoholic beverages. Volume 44. Lyon: International Agency for research on cancer; 1988. Disponible en <http://193.51.164.11/htdocs/monographs/Vol44/44.htm>.
  45. Valentine JA, Scott J, West C, Hill A. A histological analysis of the early effects of alcohol and tobacco usage on human lingual epithelium. *J Oral Pathol* 1985;14:654-65.
  46. Franceschi S, Talamini S, Barra S, Barón A, Negri E, Bidoli E, et al. Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx and esophagus in northern Italy. *Cancer research* 1995;50:6502-7.
  47. Howie NM, Williams DM. The effect of ethanol on the permeability of oral mucosa to albumin and sucrose. *J Dental Research* 1995;74:889.
  48. Uematsu F, Kikuchi H, Sagami I, Kanamaru R, Abe T, Satoh K, et al. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P-450IIE1 gene and susceptibility to lung cancer. *Jpn J Cancer Res* 1991;82:254-6.
  49. Trigkas TK., Cruchley AT., Williams DM, Wertz P, Squier. Human oral mucosal permeability is increased by short term exposure to ethanol. *J Dental Research* 1993;72:694.
  50. Peter CJ. The role of acetaldehyde in the actions of alcohol (Update 2000) *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2001; 25:15-32.
  51. IARC Monographs. The evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: allyl components, aldehydes, epoxides and peroxides, Vol. 71. Lyon: International Agency for research on cancer; 1985. Disponible en <http://193.164.11/htdocs/Monographs/Vol71/005-acetaldehyde.html>.
  52. Harty L, Caporaso N, Hayers R, Winn D, Bravo-Otero E, Blot W, et al. Alcohol dehydrogenase 3 genotype and risk of oral cavity and pharyngeal cancers. *J Nat Canc Institute* 1997;89:1698-704.
  53. Popp W, Wolf R, Vahrenholz C, Radtke J, Schell C, Kraus R, et al. Sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes of oral cancer patients seem to be influenced by drinking habits. *Carcinogenesis* 1994;15:1603-7.
  54. Yokohama A, Muramatsu T, Ohmori T, Hayashida M, Ishii H. Esophageal cancer and aldehyde dehydrogenase-2 genotypes in Japanese males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:99-102.
  55. Moreno López LA, Esparza Gómez G, González Navarro A, Cerero Lapiedra R, González Hernández MJ, Domínguez Rojas V. Risk of oral cancer associated with tobacco smoking, alcohol consumption and oral hygiene: a case-control study in Madrid, Spain. *Oral Oncology* 2000;36:170-4.
  56. Schwartz S, Doody D, Dawn E, Ricks S, Porter P, Chen C. Oral squamous cell cancer risk in relation to alcohol consumption and alcohol dehydrogenase-3 genotypes. *Cancer Epidemiol, Biomark & Prevent* 2001;10:1137-44.
  57. Bosron, WF and Li, TK. Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism. *Hepatology* 1986;6:502-10.
  58. Coutelle C, Ward PJ, Fleury B, Quattrochi P, Chambrin H, Iron A, et al. Laryngeal and oropharyngeal cancer and alcohol dehydrogenase 3 and glutathione S-transferase M1 polymorphism. *Hum Genet* 1997;99:319-25.
  59. Bouchardy C, Hirvone A, Coutelle C, Ward P, Dayer P, Benhamou S. Role of alcohol dehydrogenase 3 and cytochrome P-450E1 genotypes in susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *Int J Cancer* 2000; 87:734-40.
  60. Olshan A, Weissler M, Watson M, Bell D. Risk of head and neck cancer and the alcohol dehydrogenase 3 genotype. *Carcinogenesis* 2001;22:57-61.
  61. Watanabe J, Hayashi S, Kawajari K. Different regulation and expression of the human CYP2E1 gene due to the RsaI polymorphism in the 5'-flanking region. *J. Biochem (Tokio)* 1994;116:321-6.
  62. Väkeväinen S, Tillonen J, Agarwal D, Srivastana N, Salaspuro M. High salivary acetaldehyde after a moderate dose of alcohol in ALDH-2 deficient subjects: strong evidence for the local carcinogenic action of acetaldehyde. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24:873-7.
  63. Contreras EG, Bagán JV, Gavalda C, Torres F. Retinoides: su aplicación en las lesiones precancerosas y el cáncer oral. *Medicina Oral* 2001;6:114-23.
  64. Seitz H. Alcohol and retinoid metabolism. *GUT* 2000;47:748-50.
  65. Duester G. Genetic dissection of enzymes control retinoid signalling during development, en <http://www.burnham.org/reports/4.duester.97.html>.
  66. Blot W. Alcohol and cancer. *Cancer research* 1992;1:2119-23.
  67. Marshall J, Boyle P. Nutrition and oral cancer. *Cancer causes and control* 1996;7:101-11.
  68. Simanowski UA, Suter P, Stickel F, Maier H, Waldherr R, Smith D, et al. Esophageal epithelial hyperproliferation following long-term alcohol consumption in rats: effects of age and salivary gland function. *J Nat Cancer Institut* 1993;85:2030-3.
  69. Dutta SK, Orestes M, Vengulekur S, Kwo P. Ethanol and human saliva: effect of chronic alcoholism on flow rate, composition, and epidermal growth factor. *Am J Gastroenterol* 1992;87:350-4.
  70. Ogden GR., Wight AJ, Rice P. Effect of alcohol on the oral mucosa assessed by quantitative cytomorphometry. *J Oral Pathol Med* 1999;28:216-20.
  71. Barret AW, Williams D, Scott J. Effect of tobacco and alcohol consumption on the langerhans cell population of human lingual epithelium determined using a monoclonal antibody against HLADR. *J Oral Pathol Med* 1991;20:49-52.
  72. Du X, Squier CA, Kremer MJ, Wertz PW. Penetration on N-nitrosomnicotine (NNN) across oral mucosa in the presence of ethanol and nicotine. *J Oral Pathol Med* 2000;29:80-5.
  73. Jovanovic A, Schulten E, Kostense P, Snow GB, Van der Waal I. Tobacco and alcohol related to the anatomical site of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1993;22:459-62.
  74. Khan FA, Robinson PG, Warnakulasuriya K, Newton J, Gelbier S, Gibbons D. Predictors of tobacco and alcohol and their relevance to oral cancer controls amongst people in the south Thames health region, England. *J Oral Pathol Med* 2000;29:214-9.
  75. Llewelyn J, Mitchell, R. Smoking, alcohol and oral cancer in South East Scotland: a 10-year experience. *British J of Oral & Maxillofac Surg.* 1994; 32:146-52.
  76. Summerlin D, Dunipace A, Potter R. Histologic effects of smokeless tobacco and alcohol on the pouch mucosa and organs of the Syrian hamster. *J Oral Pathol Med* 1992;21:105-8.
  77. Weaver A, Fleming S, Smith D. Mouthwash and oral cancer: carcinogen or coincidence?. *J Oral Surgery* 1979;37:250-3.
  78. Harris E. Association of oral cancers with alcohol consumption: exploring mechanisms. *J Nat Cancer Instit* 1997;89:1656-7.
  79. Squier CA, Cox P, Hall BK. Ethanol penetration of nitrosomnicotine across oral mucosa in the presence of ethanol. *J Oral Pathol* 1986;15:276-9.